

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学 号: 21620071151920

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

酪氨酸磷酸酶 Shp2 对雌激素调控乳腺癌
发生的影响

Effects of tyrosine phosphatase Shp2 on the regulation of
estrogen signaling pathway in breast cancer

李 俊

指导教师姓名: 冯根生 教授

吕忠显 教授

专 业 名 称: 细胞生物学

论文提交日期: 2009 年 5 月

论文答辩时间: 2009 年 5 月

学位授予日期: 2009 年 5 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2009 年 5 月

厦门大学博硕士论文摘要库

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):
年 月 日

厦门大学博硕士论文摘要库

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘 要

酪氨酸磷酸酶 Shp2 (The Src homology phosphotyrosylphosphatase 2) 常常过表达于乳腺癌组织, 可能影响乳腺癌的发生及发展, 但是其具体的作用和调节机制还不清楚。本课题利用 Shp2 的过表达载体或干扰小 RNA 载体, 改变乳腺癌细胞中 Shp2 的表达, 研究了 Shp2 对乳腺癌细胞生长及其主要促生长信号雌激素的影响。结果发现: (1) Shp2 活性对乳腺癌细胞的增殖是必需的, 降低 Shp2 的蛋白表达水平, 就会阻滞乳腺癌细胞 MCF7 和 MDA-MB-231 的生长; (2) 剂量依赖性地, 雌激素能够促进乳腺癌细胞 MCF7 和 Bcap37 中 Shp2 及其伴侣蛋白 Gab2 的表达, 而作为对照, 雌激素受体阴性的 MDA-MB-231 细胞中 shp2 的蛋白表达基本不受雌激素的影响; (3) Shp2 参与调节雌激素促乳腺癌细胞生长的效应, shp2 的特异性抑制剂 pshp1 和 pshp4 抑制雌激素刺激乳腺癌细胞 MCF7 的生长, 10 μ M 时可完全消除雌激素对 MCF7 的促增殖; (4) Shp2 酶特异性抑制剂阻止雌激素信号诱导的靶基因 TFF1 的转录; 用干扰 RNA 降低 shp2 蛋白的表达, 也得到了同样拮抗雌激素诱导基因转录的结果; (5) 雌激素剂量依赖性地促进 ER α , IGF-IR, Shp2, Gab 2 复合物的形成; (6) Shp2 的相关细胞质信号物质 IGF-IR 和 Akt 介导雌激素诱导的基因转录, 雌激素不仅激活乳腺癌细胞 MCF7 中 IGF-IR 和 Akt 的活化, IGF-IR 和 Akt 的活性抑制剂也特异性的阻止了雌激素诱导的靶基因 TFF1 (pS2) 的转录。这些结果显示, 酪氨酸磷酸酶 shp2 蛋白作为一个基本的成分, 在乳腺癌细胞中受雌激素信号的激活, 维持和介导雌激素的调控作用, 并且 shp2 的调控可能主要与雌激素的细胞质信号有关。shp2 介导乳腺癌中雌激素信号调节效应的新发现, 不仅为 shp2 在乳腺癌发生发展中的作用提供了一个新颖的机制, 同时也为理解雌激素细胞质信号在乳腺癌细胞中的调控和机制的提供了新的方向。因此, 对于乳腺癌细胞内, 雌激素细胞质信号传导机制当中 Shp2 功能进行深入的研究, 将可能为人们揭示一条乳腺癌产生和发展的新的机制, 并最终为乳腺癌的预防与治疗提供新的研究靶点。

关键词: 乳腺癌; Shp2; 雌激素

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

Shp2 (The Src homology phosphotyrosylphosphatase 2) is over-expressed in most of cases of breast cancer and play an important role in breast tumorigenesis. However, the detail of shp2 actions is poorly understood. In the current studies, we investigated effects of Shp2 on basic or estrogen-mediated cell growth in breast cancer cell lines. The results showed that: **(1)** cell growth was inhibited when protein level of Shp2 was decreased by interference small RNAs of Shp2 in breast cancer cell line MCF7 and MDA-MB-231; **(2)** estrogen induced the expression of Shp2 in dose dependent manner in MCF7 and Bcap-37 cells; **(3)** the inhibitors of Shp2 activity, pshp1 or pshp4, strongly blocked the estrogen-stimulated cell proliferation in MCF7 cells; **(4)** pshp1 or pshp4 suppressed the estrogen-mediated transcription of target gene TFF1. In addition, deletion of Shp2 protein also repressed the effects of estrogen on TFF1 transcription; **(5)** estrogen stimulated formation of a complex involving ER α , IGF-IR, Shp2 and Gab2 in a dose-dependent fasion; **(6)** estrogen activated IGF-IR or Akt in MCF7 cells, and inhibitors of the phosphorylation of IGF-IR or Akt decreased the mRNA level of TFF1(pS2) induced by estrogen treatment. Taken together, these results suggested that shp2 play important roles in breast tumorigenesis by the regulation on estrogen signaling pathway, and provide a novel mechanism. On the basis of these premises, we believe that more works deserved to be investigated the roles of Shp2 in estrogen signaling pathway. Shp2 may serves as a new therapeutic target against breast cancer.

Key word: Breast cancer; Shp2; Estrogen

目 录

第一章 前言.....	1
第一节 乳腺癌简介.....	1
第二节 雌激素在乳腺癌发生中的作用	4
2.1. 乳腺癌组织中的雌激素.....	4
2.2. 乳腺癌组织中与雌激素相关的信号通路.....	5
第三节 Shp2在乳腺癌中的作用	12
3.1. Shp2的结构与调节机制.....	13
3.2. 乳腺癌当中有关Shp2的研究.....	17
第四节 本文研究的内容和意义	19
第二章 材料与方法	21
第一节 实验材料与仪器.....	21
第二节 实验方法	27
第三章 结果与分析	34
1.1. 在无雌激素刺激下, Shp2 表达量影响乳腺癌细胞生长.....	34
1.2. 雌激素对乳腺癌细胞系当中 Shp2 表达量的影响	35
1.3. 抑制 Shp2 的活性能够阻断雌激素促进细胞生长的作用	37
1.4. Shp2调节雌激素信号诱导的基因转录	40
1.5. 雌激素促进ER α , IGF-IR, Shp2, Gab 2复合物的形成.....	44
1.6. IGF-IR, Akt介导乳腺癌细胞中雌激素调控基因表达.....	44
第四章 讨论与展望.....	47
参考文献	49
致谢	54

厦门大学博硕士论文摘要库

Table of Contexts

Chapter 1 Introduction	1
Part I Introduction of breast cancer	1
Part II Regulations of Estrogen in breast cancer	4
1.1 Functions of Estrogen in breast tissue	4
1.2 Estrogen associated signaling pathway	5
Part III Roles of Shp2 in breast cancer	12
1.1 Structure and regular regulating mechanism	13
1.2 Shp2 in breast cancer	17
Part IV Purposes and significance of our research	19
Chapter 2 Materials and methods	21
Part I Materials and equipments	21
Part II Methods	27
Chapter 3 Results and analysis	34
1.1 Shp2 affected cell proliferation in breast cancer cell lines	34
1.2 Estrogen induces overexpression of Shp2 in breast cancer lines	35
1.3 Inhibition of Shp2 blocked estrogen-stimulated proliferation in MCF7 cells	37
1.4 Shp2 regulated estrogen-mediated gene transcription	40
1.5 E2 stimulated the formation of a complex involving ER α , IGF-IR, Shp2, Gab2	43
1.6 IGF-IR and Akt involves in estrogen-induced gene transtription	44
Chapter 4 Discussion and prospect	47
References	49
Acknowledgements	54

厦门大学博硕士论文摘要库

第一章 前言

第一节 乳腺癌简介

经过多年努力，医学界在乳腺癌的早期检测和治疗方法上取得了长足的进步，但是与此同时，无论在中国还是西方，乳腺癌的发病率近年来都逐渐升高。特别是在美国，乳腺癌的发病率自1930年以来就以每年1.2%的速度增长。相比之下，中国属于乳腺癌发病率较低的区域。但是即便如此，在我国女性当中，乳腺癌的发病几率已经从2003年的十万分之十七增加到2007年的十万分之五十二，呈快速上升趋势，而且发病年龄也越来越年轻化，目前女性乳腺癌的发病几率分别是女性肺癌、肝癌、胃癌、食管癌的1.14、1.75、1.52和2.67倍，已经占据危害女性健康恶性肿瘤首位[1]。

乳腺癌的病理形态复杂，为了较全面及确切的反映乳腺癌的病理形态特征与生物学行为，各家有不少的分类法。1978年全国乳腺癌早期诊断座谈会将乳腺癌分为非浸润性癌、非特殊型浸润性癌及特殊型浸润性癌三大类。1983年全国乳腺癌病理协作组会议再修订为现行的分类法，为非浸润性癌、早期浸润性癌、浸润性特殊型癌、浸润性非特殊癌四大类，此分类法较符合病理分类要求。

1.1. 非浸润性癌

是乳腺癌的早期阶段，当癌瘤局限在乳腺导管或腺泡内，未见突破其基底膜时称非浸润性癌。

(1) 导管内癌：癌细胞局限于导管内，未突破管壁基底膜。多发生于中小导管，较大导管少见，一般为多中心散在性分布。

(2) 小叶原位癌：发生于小叶导管及末梢导管上皮细胞的癌，多见于绝经前妇女，发病年龄较一般乳腺癌早5—10年。小叶增大，管、泡增多，明显变粗，充满无极性的癌细胞。小叶原位癌发展缓慢，预后良好。

1.2. 早期浸润性癌

(1)小叶癌早期浸润：癌组织突破管壁基底膜，开始向小叶间质浸润，但仍局限于小叶范围内。

(2)导管癌早期浸润：导管内癌的癌细胞突破管壁基底膜，开始生芽、向间质浸润。

1.3. 浸润性特殊型癌

(1)乳头状癌：发生于大乳管的上皮细胞，癌实质以有纤维脉管束或无纤维脉管束的乳头状结构为主者，可为非浸润性与浸润性乳头状癌。其浸润往往出现于乳头增生的基底部。

(2)髓样癌伴有大量淋巴细胞浸润：切面常有坏死和出血，镜下可见大片癌细胞间质中有大量淋巴细胞及浆细胞浸润。以癌周边部更明显，一般认为是机体对肿瘤产生的抵抗。

(3)小管癌：发生于导管或小导管上皮细胞，是恶性度较低的一类型，预后良好。

(4)腺样囊性癌：由基底细胞样细胞形成大小、形态不一的片块或小巢，内有数目不等，大小较一致的圆形腔隙。腔面及细胞片块周边可见肌上皮细胞。

(5)大汗腺样癌：癌细胞胞浆丰富，嗜酸，有时可见顶浆突起，胞核轻度到中度异型，形成腺管、腺泡或小乳头结构。

(6)粘液腺癌：发生于乳腺导管上皮粘液腺化生的基础上，多见于近绝经期或绝经后的妇女，尤以60岁以上妇女多见。癌实质中，上皮粘液成分占半量以上。粘液绝大部分在细胞外，形成粘液湖；偶见在细胞内，呈印戒样细胞。

(7)鳞状细胞癌：来源于鳞状上皮化生的乳腺导管上皮。癌实质全部为典型的鳞状细胞癌，即可见细胞间桥和角化。若其他型癌发生部分鳞状上皮化生，则不在此列。

(8)乳头派杰氏病：又称乳头湿疹样癌，Paget (1874)首先描述此病。经过多年的研究，目前认为其镜下瘤细胞形态具有体积大，胞浆丰富淡染，常呈空泡状，核较大，明显不规则，偶见核分裂象。

1.4. 浸润性非特殊型癌

(1) 浸润性小叶癌：小叶癌明显向小叶外浸润，包括小细胞型浸润癌。

(2) 浸润性导管癌：导管癌明显浸润间质，但浸润部分不超过癌实质一半。若超过一半，则以浸润性癌的主要形态命名。

(3) 硬癌：癌细胞排列成细条束或零散分布，很少形成腺样结构，纤维间质成分占三分之二以上，且致密。

(4) 髓样癌：癌巢呈片状或团块状密集，可有腺样结构，癌实质占三分之二以上，间质可有少量淋巴细胞及浆细胞。

(5) 单纯癌：介于硬癌与髓样癌之间，即癌实质与纤维间质成分比例近似。癌细胞主要形成不规则的实性条束或小巢，也可有腺样结构。

(6) 腺癌：癌细胞大小尚一致，胞浆丰富，可有分泌，核深染，核分裂象多见，癌细胞呈腺管样排列，层次多，极性紊乱，缺少基底膜，在间质中呈浸润性生长，癌细胞亦可呈条索片块排列，腺管样排列需占二分之一以上。

近年来人们对ER、PR、p16、p21、Cyclin D1蛋白、p53、PCNA与乳腺癌之间的关系作了大量研究。按 WHO 分类标准进行病理分型，对浸润性导管癌、浸润性小叶癌的病例根据腺管形成、细胞分化及核分裂等三项主要指标进行评分，发现p16蛋白在浸润性导管癌II级与III级之间有显著性差异。p21、PCNA表达阳性者，淋巴结转移率有显著性差异。Cyclin D1蛋白表达阳性率与临床病理特征、ER、PR未见相关。

第二节 雌激素在乳腺癌发生中的作用

随着对于乳腺癌基础研究的越来越深入，研究者们逐渐发现众多因素都影响着乳腺癌的发生。在基因水平上，诱发原因包括 BRCA1, BRCA2 突变，乳房、卵巢、子宫内膜癌症家族史等[2]。在生理水平上，诱发原因包括提前出现月经，晚育或不生育，哺乳周期短，绝经较晚，使用激素替代法治疗以及提高骨骼密度等[3-5]。而这些内分泌相关的危险因子都包括一个共同的作用点，那就是延长了雌性激素的作用时间。如同阴道癌，宫颈癌这些已经进行过深入研究的女性癌症一样，女性在长时间地处于高水平的雌激素刺激的状态下，特别是在一定的生理时期当中（例如青春期，妊娠期，绝经期等），更加容易增加乳腺癌的发生几率。正是基于这点认识，无数的研究者们通过研究雌激素在乳腺癌细胞中的作用机制，试图揭示雌激素在乳腺癌发病机理中的作用，从而为乳腺癌的治疗提供新的靶点。

2.1. 乳腺癌组织中的雌激素

雌激素是一类女性激素的统称，由卵巢和胎盘产生。肾上腺皮质也产生少数雌激素。在人体乳腺组织当中，活性最强的雌激素是 17β -雌二醇。乳腺癌组织中的雌激素主要是自身以胆固醇为前体，重新合成的 17β -雌二醇，并不受到人体血液循环系统中 17β -雌二醇含量的太大影响。有研究表明，尽管女性绝经后血液中 17β -雌二醇含量下降了 90%，但事实上在乳腺癌组织当中 17β -雌二醇的含量却并没有太大的变化[6]。同时另一项研究的结果也证明，在女性绝经前，乳腺癌组织当中的 17β -雌二醇约有 75% 是由乳腺癌组织当中多种酶催化，从前体转化而来的。而在女性绝经后，在乳腺癌组织中自身合成的 17β -雌二醇的比例已经达到了几乎 100%[7]。这些研究结果一方面促进了关于乳腺癌组织当中如何建立起一套独立于正常组织的关于雌激素合成和代谢系统的研究，另一方面也进一步暗示了维持一定水平的雌激素含量可能对于乳腺癌组织正常的生长具有重要的意义。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库